

Таблица 1. Вирусная нагрузка у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С

№ п/п	Клиническая форма туберкулеза	Длительность химиотерапии ПТЛС (мес.)	Давность заболевания туберкулезом	Вирусная нагрузка (копий/мл)
1	Инфильтративный	6 мес.	рецидив	1006799
2	Казеозная пневмония	33 мес.	отрыв от лечения	15332664
3	Инфильтративный	24 мес.	рецидив	14860
4	Инфильтративный	18 мес.	рецидив	3688
5	Инфильтративный	20 мес.	рецидив	7919573
6	Инфильтративный	36 мес.	рецидив	11352
7	Инфильтративный	24 мес.	рецидив	4289108
8	Инфильтративный	20 мес.	неудача в лечении	7628454
9	Диссеминированный	3 мес.	рецидив	12339
10	Инфильтративный	8 мес.	рецидив	15226
11	Инфильтративный	25 мес.	впервые выявленный	13035
12	Инфильтративный	-	рецидив	27436942
13	Инфильтративный	-	впервые выявленный	53184793
14	Инфильтративный	1,5 мес.	впервые выявленный	24 000
15	Инфильтративный	3 мес.	впервые выявленный	0

**Выводы.** Таким образом, наибольшая вирусная нагрузка у пациентов с гепатитом С и туберкулезом была установлена у пациентов, которым не проводилось лечение ПТЛС.

#### Литература:

1. О применении клинического руководства в противотуберкулезной работе [Электронный ресурс] : приказ М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 30 мая 2017 г., № 601 // Бизнес-инфо. Аналит. правовая система. – Минск : Проф. правовые системы, 2018.

УДК 616.9:579

## ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ТЕСТ - СИСТЕМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

*Семенов В.М.,<sup>1</sup> Кубраков К.М.,<sup>1</sup> Егоров С.К.,<sup>1</sup> Маршалко О.В.<sup>2</sup>,  
Пашинская Е.С.<sup>1</sup>, Дмитраченко Т.И.<sup>1</sup>*

УО «Витебский государственный медицинский университет»<sup>1</sup>  
Министерство здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск<sup>2</sup>

**Введение.** Интерес к инфекционным заболеваниям не ослабевает во всем мире, несмотря на предпринимаемые меры борьбы и профилактики с ними. Устойчивость к применяемым препаратам ставит под угрозу эффективную профилактику и лечение растущего числа инфекций, вызываемых бактериями, паразитами, вирусами и грибами. Актуальность инфекций определяется тяжелым и осложненным течением заболевания, высокими показателями летальности, нарастающим спектром этиопатогенов, ростом резистентности основных возбудителей к антибактериальным препаратам, что приводит к большим экономическим потерям в системе здравоохранения. Расшифровка этиологии инфекций в настоящее время является актуальной проблемой в связи с малой частотой выделения возбудителей, которая составляет от 35%-43% до 65%-70% в зависимости от вида инфекционной патологии [1, 2].

В последние годы в рамках организации глобальной системы наблюдения и дозорного эпидемиологического контроля, внимание ВОЗ привлекли инвазивные

бактериальные заболевания, к которым относятся бактериальные гнойные менингиты (БГМ). Среди возбудителей БГМ встречаются представители облигатных и факультативных анаэробов, облигатных аэробов, грамотрицательные и грамположительные бактерии [3]. Однако в большинстве своем, причиной возникновения БГМ являются бактерии *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и др.

Еще одной не менее актуальной проблемой инфекционного (паразитарного) генеза является токсоплазмоз. Известно, что токсоплазмоз фиксируется у 80% населения Земли. Только врожденная форма токсоплазмоза выявляется на уровне 190 000 случаев в год. Риск поражения плода при инвазии беременной составляет от 25% в первом и до 65% в третьем триместре беременности. По литературным данным у матерей с токсоплазмозом повышается количество мутантной ДНК, что может негативно влиять на все этапы эмбриогенеза.

Не менее значимо и то, что удельный вес этого заболевания, как причины развития хориоретинитов в США и Европе достигает 30%. Токсоплазмоз с поражением ЦНС у лиц в возрасте старше 1 года является СПИД-индикаторным заболеванием, занимая 2-4 место по частоте причин летальных исходов у больных ВИЧ-инфекцией. Однако кроме ВИЧ-инфицированных, серьезной проблемой токсоплазмоз становится для лиц со сниженным иммунитетом: при герпесе, цитомегаловирусной инфекции, инфекционном мононуклеозе, а также при использовании иммунодепрессантов [4, 5, 6].

Учитывая цикл развития и патогенез вышеперечисленных бактерий и паразита, а также при условии наличия микробиологической лаборатории в учреждении здравоохранения, установить возбудителя удастся в среднем на третий (токсоплазмоз – минимум на седьмой) день госпитализации пациента. Такая ситуация чревата возникновением осложнений у пациента и требует применения новых подходов к диагностике, характеризующихся высокой чувствительностью, точностью и скоростью проведения.

В настоящее время для диагностики, широко используется полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ), принципиальным преимуществом которой является получение результатов в достаточно короткие сроки, упрощение анализа, а также снижение количества манипуляций с исследуемым образцом, и, как результат, снижение вероятности ошибок. Соблюдение алгоритма определенных действий в работе с ПЦР, грамотный подбор материала и его обработка, позволит разработать новейшие тест-системы для ускоренной дифференциальной диагностики инфекции различной этиологии и локализации с последующим практическим внедрением полученных результатов

**Цель** – разработать алгоритм определения праймеров и зондов для детекции основных возбудителей БГМ и токсоплазмы для создания тест-системы ПЦР-РВ.

**Материал и методы.** Конструирование праймеров и подбор зондов осуществляли согласно разработанным этапам:

Оценка возможных диагностически значимых участков генома;

Поиск геномов искомым возбудителей и нуклеотидных последовательностей их генов – в базе данных GenBank Национального Центра Биотехнологической Информации США (GenBank NCBI USA) [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>];

Поиск нуклеотидных последовательностей, гомологичных заданной, осуществляли методом глобального попарного выравнивания (global pair wise alignment) с помощью программ Clustal Omega и Ugene;

Поиск участков, наиболее общих для всех найденных индивидуальных последовательностей (консервативных участков), а также участков каждой последовательности, присущих только одной из них (вариабельных и уникальных

участков) выполнялись использованием глобального множественного выравнивания (global multiple alignment) с целью подбора участков нуклеотидных последовательностей, которые можно будет использовать в качестве прямого и обратного праймеров.

Подбор оптимальных праймеров и зондов с учетом размера (длины) ампликона, температуры отжига, нуклеотидного состава, распределения нуклеотидов по длине праймера, длины праймеров, возможности образования праймерами шпилек и димеров с помощью программ Primer-BLAST / Primer3, FastPCR.

Проверка выбранных последовательностей праймеров на специфичность отжига. Поскольку праймеры, даже абсолютно уникальные для тех или иных последовательностей ДНК, могут отжигаться и на неспецифичных участках, не относящихся к анализируемому гену, на данном этапе выполняли проверку соответствия праймеров последовательностям целевого гена. Для этой цели использовали on-line сервис NCBI Primer BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>], и оценивали локальное попарное выравнивание каждого из праймеров со всеми нуклеотидными последовательностями баз данных Refseqinr.

**Выводы.** Разработка и соблюдение четких этапов создания (дизайна) праймеров и зондов основных возбудителей инфекции, является ключевым фактором в успехе определения достоверных генов и нуклеотидных последовательностей для создания ПЦР тест системы с высокими аналитическими возможностями.

#### **Литература:**

1. Эпидемиологический мониторинг за гнойными бактериальными менингитами в историческом и современном аспекте / М.А. Королева [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2014. – № 2. – С. 52–56.
2. Феклисова, Л.В. Менингит у пациентов детского неспециализированного отделения / Л.В. Феклисова // Инфекц. болезни. – 2015. – № 1. – С. 107–108.
3. Castelblanco, R.L. Epidemiology of bacterial meningitis in the USA from 1997 to 2010: a population-based observational study / R.L. Castelblanco, M. Lee, R. Hasbun // Lancet Infect. Dis. – 2014. – Vol. 14, № 9. – P. 813–819.
4. Разработка и оценка аналитических характеристик ПЦР тест-систем для выявления ДНК *Toxoplasma gondii* / Э.А. Домонова [и др.] // Молекуляр. диагностика ВИЧ. – 2013. – Т. 1. – С. 141–144.
5. Сарсекеева, Н.Е. ВИЧ-инфекция и токсоплазмоз / Н.Е. Сарсекеева // Fundamental Research. – 2014. – № 10 – С. 1976–1978.
6. Токсоплазмоз во время беременности профилактика, диагностика и лечение. Клиническое практическое руководство общества акушеров-гинекологов Канады // Репродуктив. эндокринология. – 2013. – № 1. – С. 86–91.

**УДК 616.972-055.26**

### **ВЛИЯНИЕ ИППП И СИФИЛИТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ НА ИСХОД БЕРЕМЕННОСТИ**

***Спиридонов В.Е., Небосько Ю.Ф., Майстрёнок А.М.***

УЗ «Витебский областной клинический центр дерматовенерологии и косметологии»

**Введение.** Последнее десятилетие во всем мире ознаменовано значительным ростом заболеваемости беременных инфекциями, передаваемыми половым путем (далее – ИППП), которые крайне негативно влияют на течение беременности, развитие плода и, в ряде случаев, приводят к фатальным последствиям (замершая беременность или самопроизвольное ее прерывание) из-за способности инфекционных агентов